



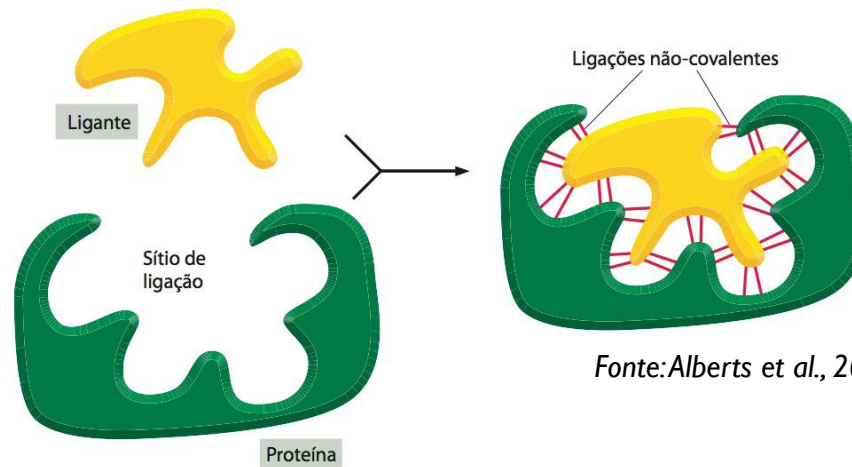
Como as proteínas desempenham
suas funções

Profa. Dra. Luciana R. Meireles J. Ekman

Como as proteínas trabalham?

- As proteínas se ligam a outras moléculas (ligação apresenta alta especificidade).
- Qualquer substância que se liga a uma proteína (íon, uma molécula pequena, ou uma macromolécula) é denominada **ligante** da proteína.
- A proteína liga-se seletivamente a um ligante devido à formação de um conjunto de *ligações fracas não covalentes*.

Sítio de ligação: consiste em uma cavidade na superfície da proteína, formada por um arranjo particular de aminoácidos.

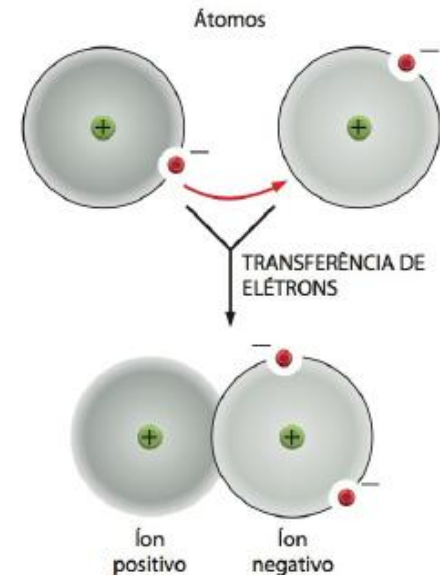
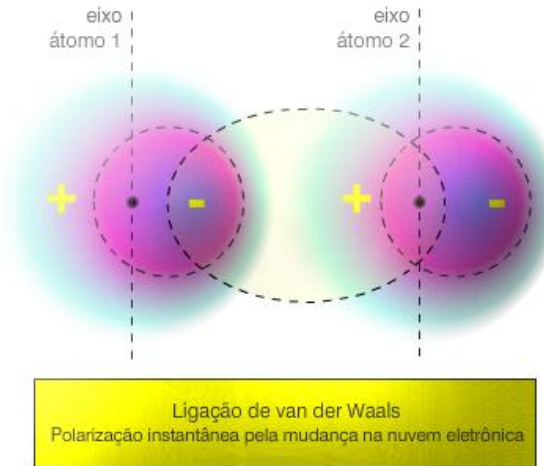
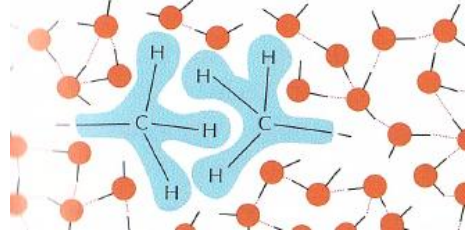
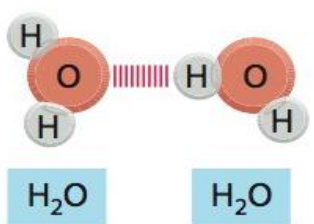
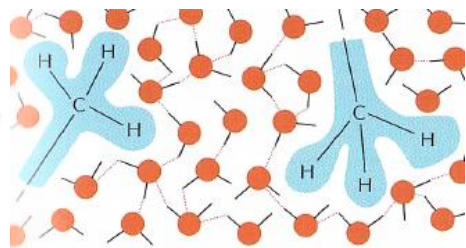
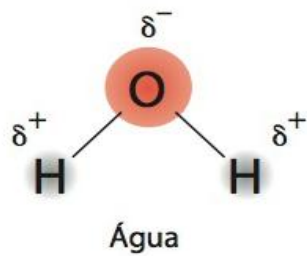


Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.



Como as proteínas trabalham?

- Pontes de hidrogênio, ligações iônicas, força de van der Waals e interações hidrofóbicas.
- Cada ligação individual é fraca, de tal modo que uma interação efetiva requer que muitas dessas ligações se formem simultaneamente.



Pontes de hidrogênio

Interações hidrofóbicas

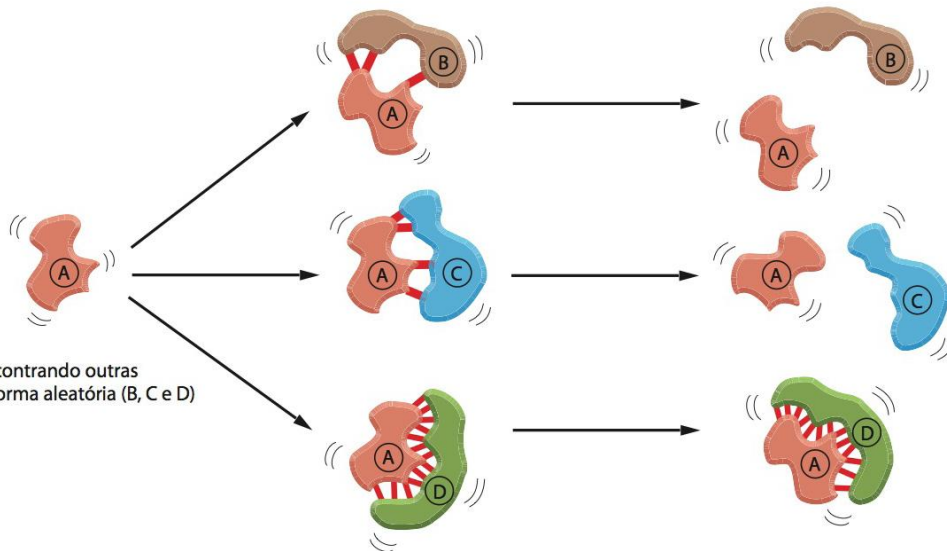
Forças de van der Waals

Ligação iônica



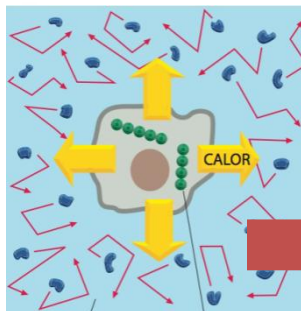
Como as proteínas trabalham?

- ▶ Isto é possível apenas quando o contorno superficial da molécula do ligante completa-se precisamente no da proteína, encaixando-se como uma “mão dentro de uma luva”, ou como “chave-fechadura”.



As superfícies das moléculas A e B e das moléculas A e C apresentam baixa complementaridade e são capazes de formar apenas poucas ligações fracas. Movimentos térmicos rapidamente as separam.

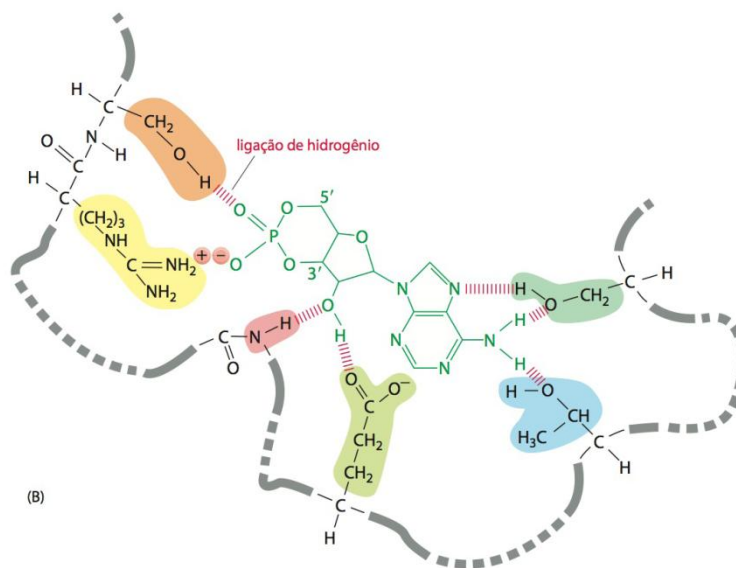
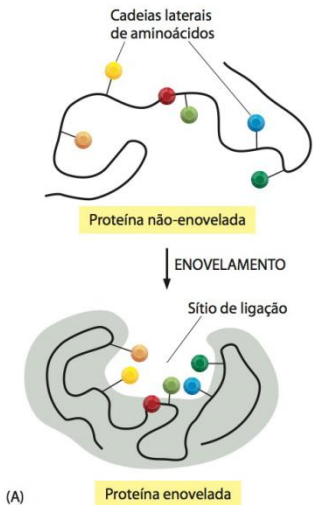
As superfícies das moléculas A e D são complementares e podem formar ligações fracas em número suficiente para suportar o choque térmico.



Durante as reações químicas que ocorrem no interior da célula, parte da energia é convertida em calor (energia térmica). Este calor provoca movimentos aleatórios das moléculas no interior da célula.

Como as proteínas trabalham?

- ▶ A região de uma proteína que se associa com um ligante é denominada **sítio de ligação** que usualmente consiste em uma cavidade na superfície da proteína:
 - ▶ Formada por um arranjo particular de aminoácidos.
 - ▶ Esses aminoácidos pertencem a regiões muito separadas entre si na cadeia polipeptídica e se aproximam espacialmente graças ao enovelamento da proteína.



O enovelamento de uma cadeia polipeptídica tipicamente cria uma fenda, ou uma cavidade na superfície de uma proteína. Esta fenda contém um conjunto de cadeias laterais de aminoácidos dispostas de tal maneira que possam fazer ligações não-covalentes somente com certos ligantes.

Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

As enzimas são catalisadores potentes e de alta especificidade

- As enzimas determinam todas as transformações químicas que ocorrem nas células.
- Ligam-se à moléculas denominadas **substratos**, convertendo-as em produtos quimicamente modificados.
- As enzimas aceleram as reações químicas, frequentemente por fatores de milhões de vezes ou mais, agindo como **catalisadores** que permitem às células fazerem e desfazerem ligações conforme a sua necessidade.

É a catálise de conjuntos organizados de reações químicas por enzimas que cria e mantém uma célula, tornando a vida possível.



As enzimas são catalisadores potentes e de alta especificidade

Classes funcionais

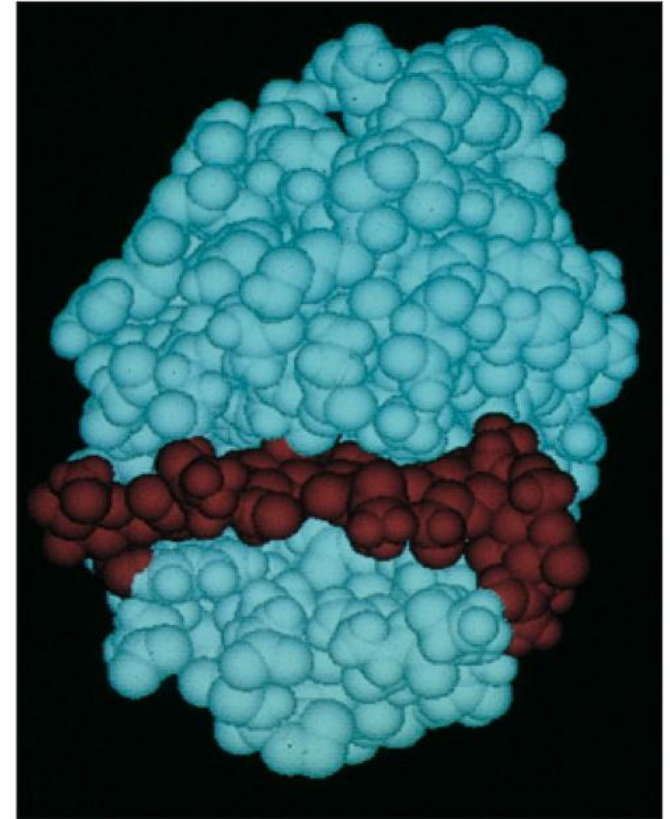
Enzima	Reação catalisada
Hidrolases	Termo geral para enzimas que catalisam reações de clivagem hidrolítica; <i>nucleases</i> e <i>proteases</i> são nomes mais específicos para subclasses dessas enzimas.
Nucleases	Clivagem de ácidos nucleicos pela hidrólise das ligações entre os nucleotídeos.
Proteases	Clivagem de proteínas pela hidrólise das ligações entre os aminoácidos.
Sintases	Síntese de moléculas em reações anabólicas pela condensação de duas pequenas moléculas.
Isomerases	Catálise do rearranjo das ligações de uma única molécula.
Polimerases	Catálise de reações de polimerização como a síntese de DNA e RNA.
Cinases	Catálise da adição de grupos fosfato a moléculas. Proteína cinases são um importante grupo de cinases, que ligam grupos fosfato a proteínas.
Fosfatases	Catálise da remoção hidrolítica de grupos fosfato de uma molécula.
Óxido-redutases	Nome genérico para enzimas que catalisam reações em que uma molécula é oxidada enquanto outra é reduzida. Enzimas desse tipo frequentemente são chamadas pelo nome mais específico de <i>oxidases</i> , <i>redutases</i> ou <i>desidrogenases</i> .
ATPases	Hidrólise de ATP. Muitas proteínas com amplas funções apresentam atividade de ATPase como parte de suas funções; por exemplo, proteínas motoras, como <i>miosina</i> , e proteínas de transporte da membrana, como a <i>bomba de sódio e potássio</i> .

Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.



A lisozima demonstra como trabalha uma enzima

- A lisozima é uma proteína relativamente pequena e estável e pode ser isolada facilmente em grandes quantidades.
- Age como um antibiótico natural na clara do ovo, na saliva e nas lágrimas.
- A lisozima é uma enzima que **catalisa a remoção de cadeias de polissacarídeos** da parede de bactérias, provocando a ruptura de sua parede celular e, conseqüentemente, a morte da bactéria.
- A reação catalisada pela lisozima é uma **hidrólise** = uma molécula de água é adicionada a uma única ligação entre dois grupos de açúcar adjacentes no polissacarídeo, causando a quebra da cadeia.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

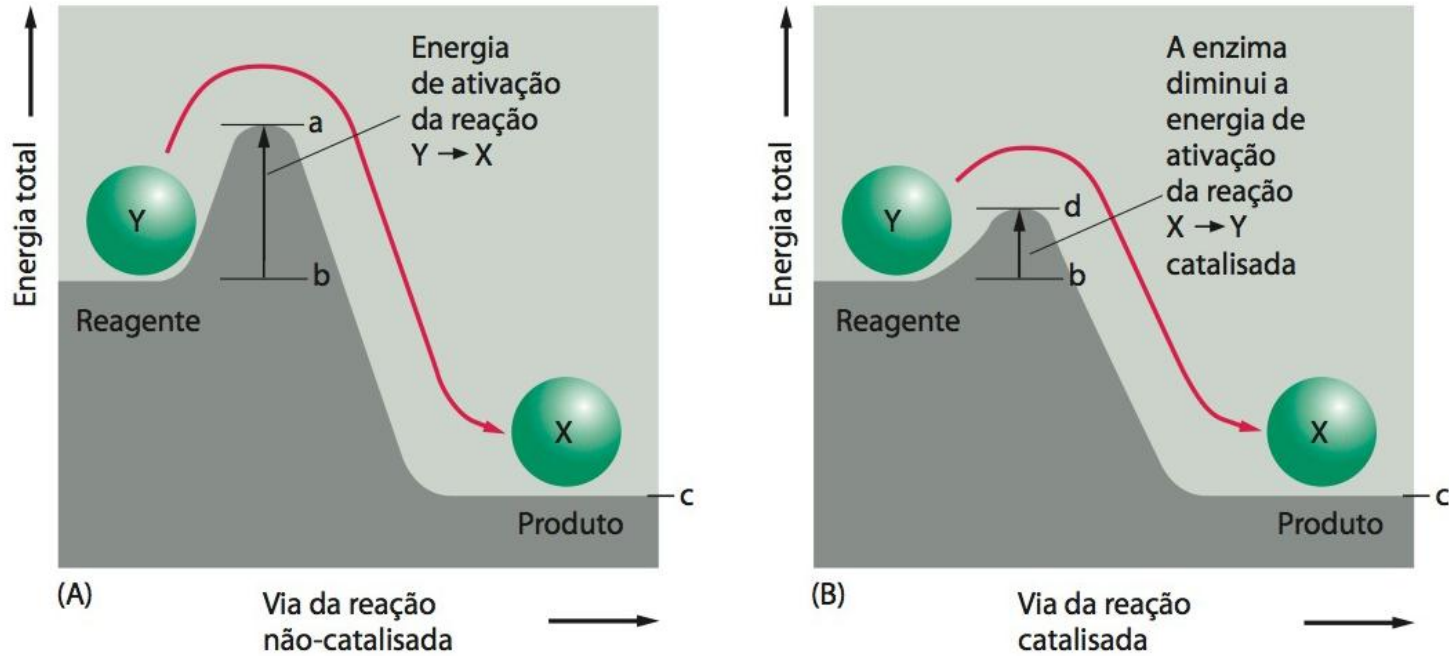


A lisozima demonstra como trabalha uma enzima

- No entanto, o polissacarídeo puro pode ficar por anos dissolvido em água sem ser hidrolisado. Isto ocorre devido à existência de uma barreira energética para a reação de hidrólise:
 - Para uma molécula de água colidir e romper a ligação covalente que liga dois açúcares, a cadeia polissacarídica deve estar distorcida.
 - Por causa dessa distorção, é necessário um grande aporte de energia, chamada de **energia de ativação**.
 - Em uma solução aquosa e à temperatura ambiente, a energia presente quase nunca excede a energia de ativação necessária e, conseqüentemente, a hidrólise ocorre de maneira extremamente lenta.



As enzimas reduzem a barreira que bloqueia as reações químicas

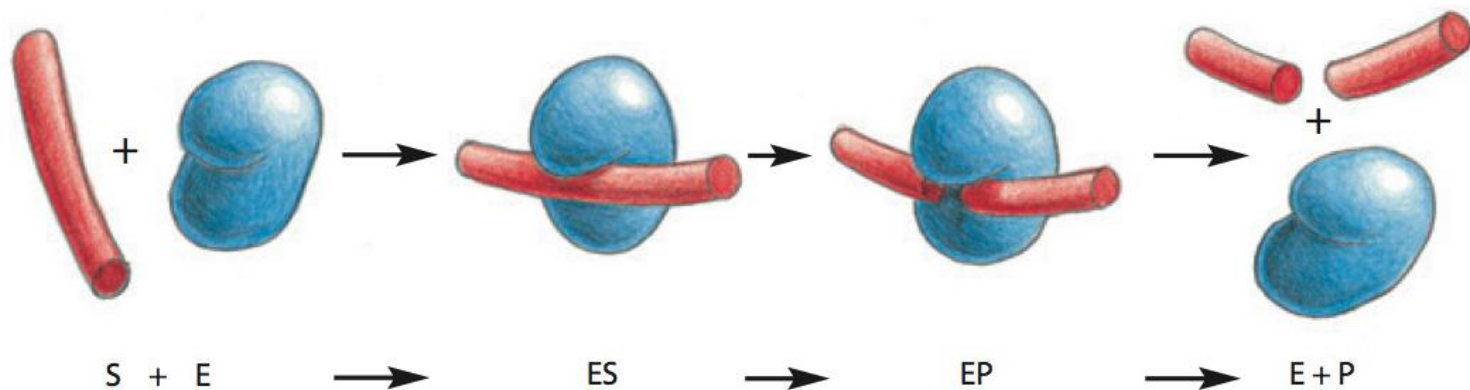


Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.



A lisozima demonstra como trabalha uma enzima

- ▶ Como toda enzima, a lisozima possui um sítio de ligação especial em sua superfície chamado **sítio ativo** que encaixa-se precisamente no contorno da molécula de seu substrato, e no qual a catálise da reação química ocorre.
- ▶ O sítio ativo da lisozima, uma vez que seu substrato é um polímero, é uma longa fenda na superfície da proteína, que pode acomodar até seis açúcares ligados ao mesmo tempo.
- ▶ Quando o polissacarídeo se liga para formar o complexo enzima-substrato, a enzima quebra a cadeia polissacarídica ao adicionar uma molécula de água a uma de suas ligações açúcar-açúcar. As duas novas cadeias resultantes dissociam-se rapidamente da enzima, liberando-a para outros ciclos de reação.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

As enzimas são catalisadores potentes e de alta especificidade

- Cada tipo de enzima é altamente específica, catalisando apenas um único tipo de reação.
- *As enzimas trabalham em equipe, sendo que o produto da reação de uma enzima torna-se o substrato para a enzima seguinte.*



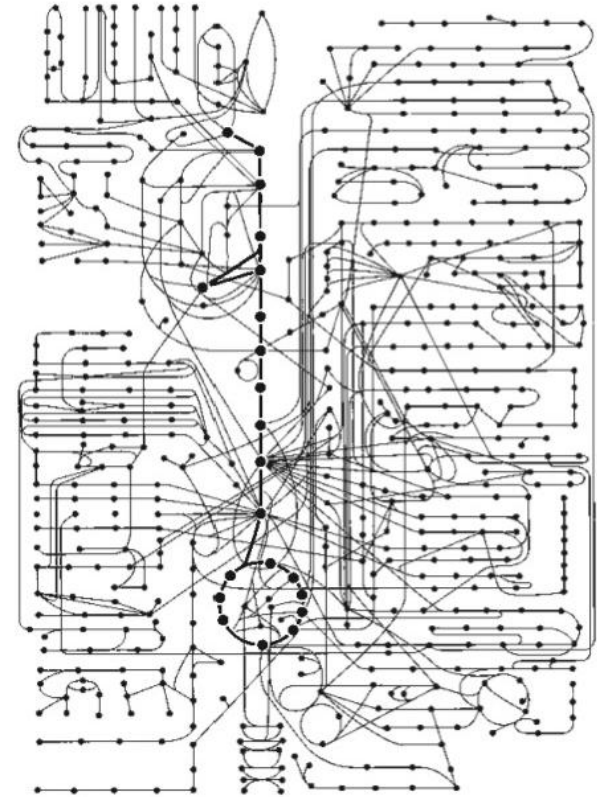
Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

Resultado: é uma elaborada malha de rotas metabólicas que suprem as células com energia, além de gerarem as moléculas que as células precisam.



As atividades catalíticas das enzimas são reguladas

- ▶ Uma célula viva contém milhares de enzimas, operando simultaneamente no citosol.
- ▶ Devido suas funções catalíticas, as enzimas geram uma complexa **rede de rotas metabólicas**, cada qual composta de uma sequência de reações químicas, na qual o produto de uma enzima torna-se o substrato da próxima.
- ▶ **Nesse labirinto de rotas existem muitos pontos de ramificações, onde diferentes enzimas competem pelo mesmo substrato.**
- ▶ O sistema é tão complexo que é necessário um mecanismo para regular quando e em que velocidade cada reação deve ocorrer.

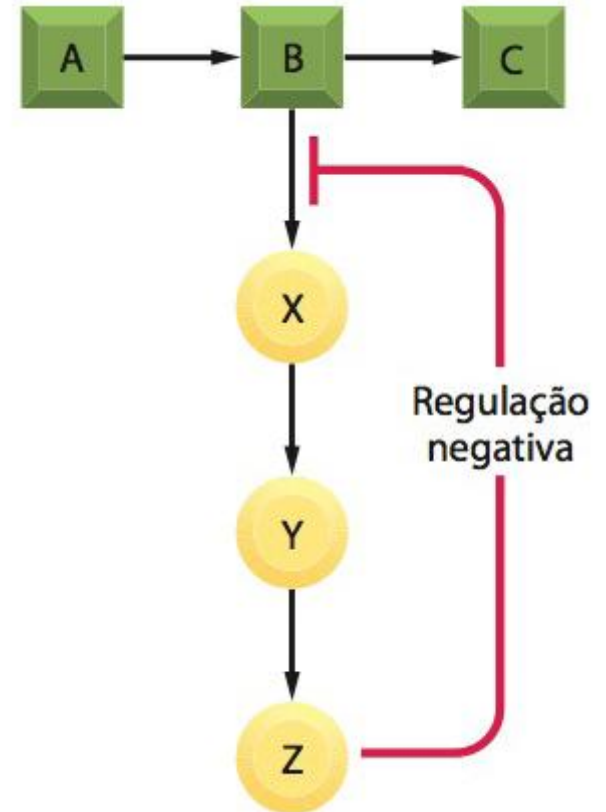


Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

Cerca de 500 reações metabólicas e suas interconexões em uma célula típica. Cada molécula das vias metabólicas está representada por um círculo preenchido.

A célula regula a atividade catalítica de suas enzimas

- O controle ocorre quando uma molécula, liga-se a uma enzima em um **sítio regulatório** especial fora do sítio ativo, alterando a velocidade com que a enzima converte seu substrato a produto.
- Na **inibição por retroalimentação**, uma enzima atuando em uma etapa anterior numa rota metabólica é inibida por um produto posterior da mesma rota.
- Toda vez que grandes quantidades do produto final começam a acumular, esse produto liga-se à primeira enzima da rota, diminuindo sua atividade catalítica, limitando o aporte de mais substratos naquela sequência de reações.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

Enzimas alostéricas possuem dois sítios de ligações interativos

- ▶ O processo de retroalimentação ocorre porque a maioria das enzimas tem dois sítios de ligação diferentes na sua superfície:
 - ▶ O sítio ativo que reconhece os substratos e um segundo sítio que reconhece uma molécula regulatória.
 - ▶ Esses dois sítios devem-se comunicar de tal modo a permitir que os eventos catalíticos no sítio ativo sejam influenciados pela ligação da molécula regulatória ao seu próprio sítio na superfície da proteína.
 - ▶ A interação entre os diferentes sítios de uma molécula proteica ocasiona uma mudança conformacional da proteína.

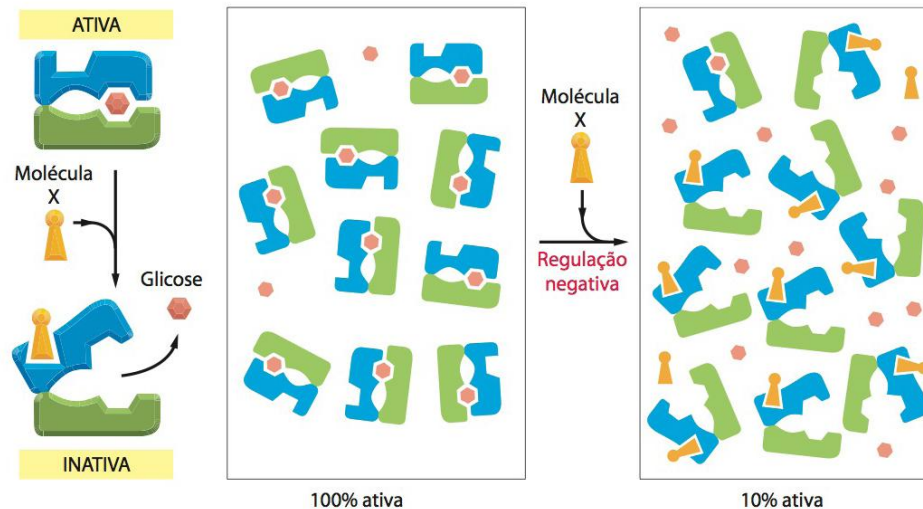
Alosteria (do grego *allo* = outro, e *stere* = sólido ou forma)

Enzima alostérica: apresenta 2 formas estruturais diferentes → uma ativa e outra inativa.



Enzimas alostéricas possuem dois sítios de ligações interativos

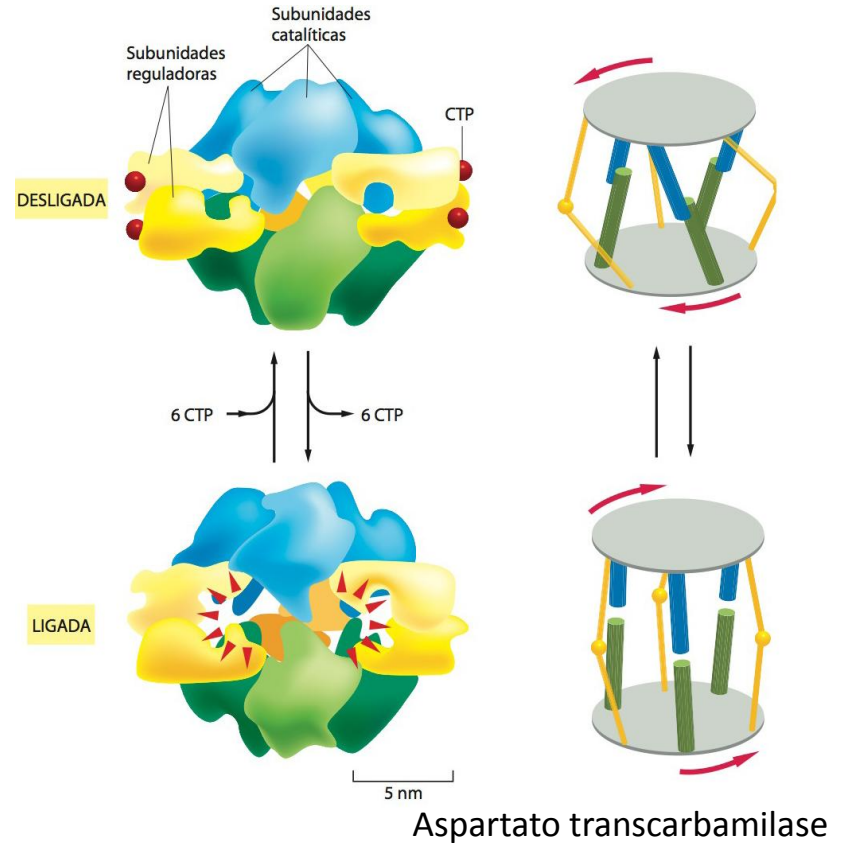
- Muitas enzimas apresentam duas conformações que diferem na atividade catalítica, cada qual estabilizada pela ligação de ligantes diferentes.
- Durante a inibição por retroalimentação, a ligação de um inibidor no sítio da proteína provoca uma alteração conformacional, que resulta na inativação de seu sítio ativo, localizado em outro lugar da molécula.
- A maioria das moléculas protéicas são **alostéricas**: elas podem adotar duas ou mais conformações ligeiramente diferentes, e com a passagem de uma delas para outra, a atividade enzimática delas pode ser alterada.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

Enzimas alostéricas possuem dois sítios de ligações interativos

- Uma vez que cada conformação apresenta diferenças nos contornos da superfície da molécula, os seus sítios de ligação para um ou mais ligantes também podem ser alterados.
- Um ligante em particular favorecerá a conformação que se liga a ele mais fortemente e, assim, em concentrações suficientemente altas, este poderá induzir a mudança da proteína de uma conformação para outra.



A enzima é composta de várias subunidades. Um dos produtos finais da sua rota metabólica é o **trifosfato de citosina (CTP)**, que liga-se à enzima para inativá-la sempre que houver boa oferta de CTP.

Uma mudança conformacional pode ser induzida pela fosforilação da proteína

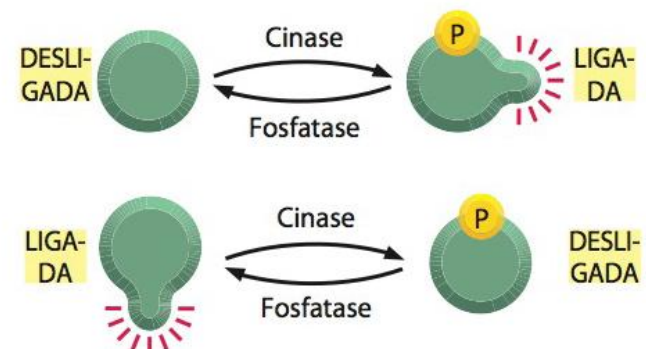
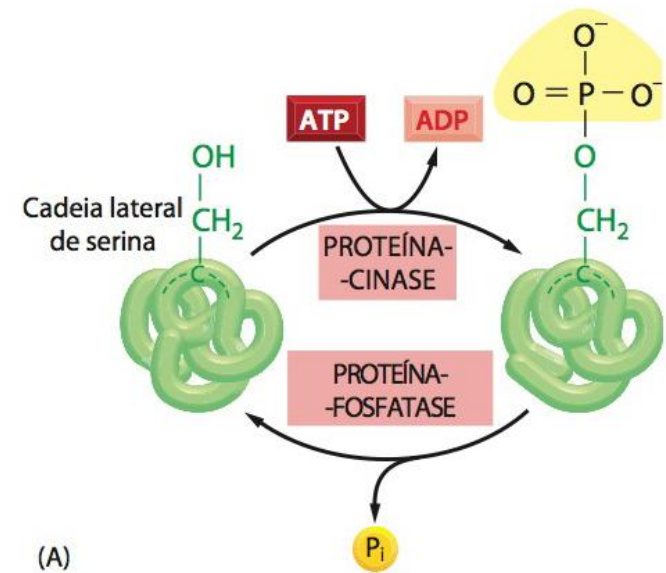
- Um segundo método que é comumente utilizado por células eucarióticas para regular a função de uma proteína é adicionar-lhe um **grupo fosfato** covalentemente ligado à cadeia lateral de um de seus aminoácidos.
 - Como cada grupo fosfato possui duas cargas negativas, a introdução de um grupo fosfato em uma proteína, catalisada enzimaticamente, produz uma significativa mudança conformacional, resultando, por exemplo, na atração de várias cadeias laterais de aminoácidos, carregados positivamente.
 - A remoção de grupos fosfatos por uma segunda enzima retorna a proteína à sua conformação original, restaurando a sua atividade inicial.
 - A **fosforilação de proteínas** de natureza reversível controla a atividade de muitos tipos diferentes de proteínas nas células eucarióticas.
 - Estima-se que mais de 1/3 das cerca de 10.000 proteínas de uma típica célula de mamífero estejam fosforiladas em um determinado momento.
 - Essa reação é catalisada por uma **proteína quinase**, enquanto que a reação reversa de remoção de um grupo fosfato, ou desfosforilação é catalisada por uma **proteína fosfatase**.
-



Uma mudança conformacional pode ser induzida pela fosforilação da proteína

- ▶ As células contêm centenas de diferentes proteínas quinases, cada qual responsável pela fosforilação de uma proteína diferente ou de um conjunto de proteínas. Existem também muitas proteínas fosfatases diferentes.

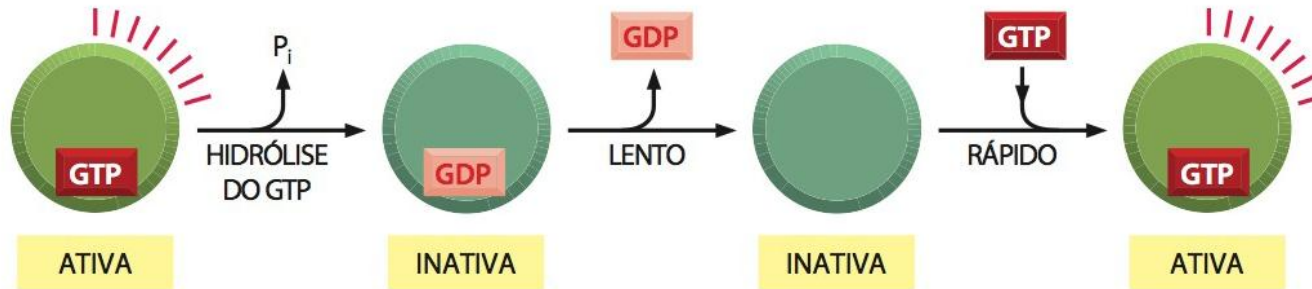
A reação transfere um grupo fosfato do ATP para a cadeia lateral de um aminoácido da proteína alvo por uma proteína cinase. A remoção do grupo fosfato é catalisada por uma segunda enzima, uma proteína fosfatase. Nesse exemplo, o fosfato é adicionado à cadeia lateral da serina. A fosforilação da proteína por uma proteína-cinase pode aumentar ou diminuir a atividade da proteína, dependendo do sítio de fosforilação e estrutura da proteína.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

Proteínas ligadoras de GTP ou Proteínas G

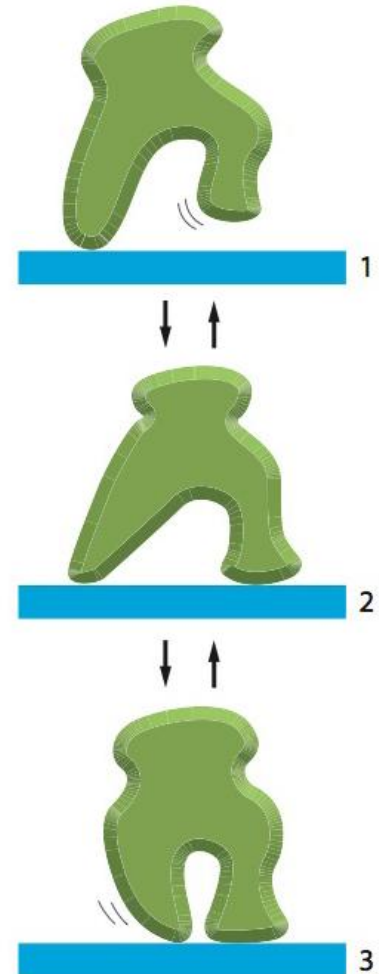
- ▶ A atividade dessas proteínas é controlada pela ligação de um **nucleotídeo de guanosina – trifosfato (GTP)**.
- ▶ Em geral, essas proteínas estão em suas conformações ativas quando têm GTP ligado nelas.
- ▶ A própria proteína hidrolisa o GTP a GDP (guanossina difosfato), liberando um grupo fosfato e muda sua conformação para um estado inativo.
- ▶ Este processo é reversível. A conformação ativa é retomada após a dissociação do GDP, seguida pela ligação à proteína de uma nova molécula de GTP.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

Como as mudanças conformacionais das **proteínas motrizes** são usadas para gerar movimentos ordenados nas células?

- Para que uma proteína consiga se mover ao longo de um fio como uma molécula de DNA, ela terá que passar por várias mudanças conformacionais.
- Se as mudanças não forem orientadas em uma seqüência ordenada, elas serão perfeitamente reversíveis e a proteína permanecerá ao acaso, indo para frente e para trás ao longo do fio.
- Uma vez que o movimento direcionado de uma proteína realiza trabalho, as leis da termodinâmica impõem que tal movimento utilize energia livre de alguma outra fonte, pois caso contrário, a proteína poderia ser utilizada como uma máquina de movimento contínuo.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

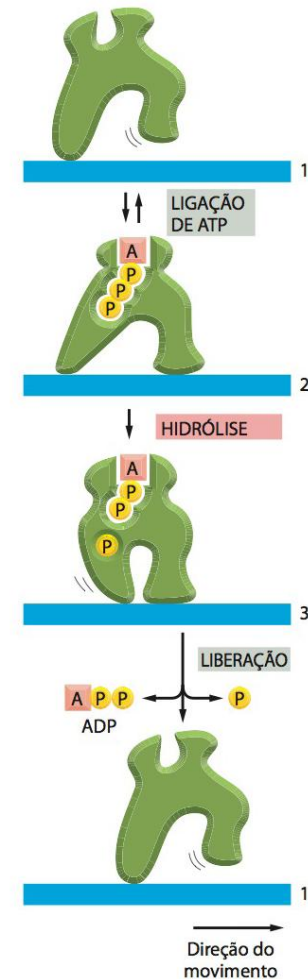
Como uma série de mudanças conformacionais pode ser realizada de forma unidirecional?

- Para obrigar que todo o ciclo proceda em uma direção é preciso que as mudanças sejam feitas de forma irreversível.
- Para a maioria das proteínas que são capazes de se deslocar em uma direção por longas distâncias, isto é possível acoplando-se a mudança conformacional com a **hidrólise de uma molécula de ATP ligada à proteína.**



Como uma série de mudanças conformacionais pode ser realizada de forma unidirecional?

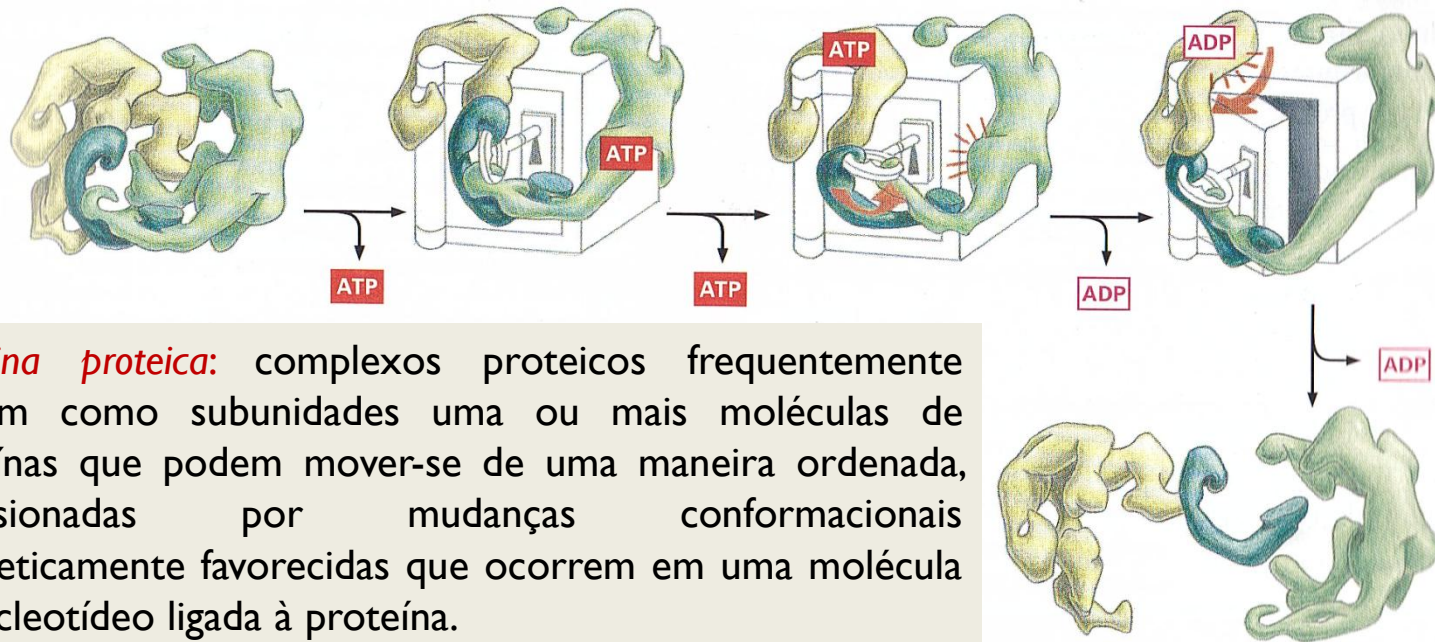
- ▶ A ligação de ATP a uma proteína-motriz promove a passagem da conformação 1 para a conformação 2.
- ▶ O ATP ligado é então hidrolisado para produzir ADP e fosfato inorgânico (P_i), provocando a mudança da conformação 2 para a conformação 3.
- ▶ A liberação do ADP e do P_i para o meio, leva a proteína de volta à conformação 1.
- ▶ Como a transição 2→3 é promovida pela energia derivada da hidrólise do ATP, essa série de mudanças conformacionais será efetivamente irreversível. Assim, o ciclo inteiro irá ocorrer em uma direção.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

As proteínas em geral formam grandes complexos que funcionam como máquinas proteicas

- ▶ As células desenvolveram máquinas proteicas pela mesma razão que o homem inventou máquinas mecânicas ou eletrônicas: para executar qualquer tipo de tarefa de forma rápida e coordenada por meio de processos interligados mais eficientes do que o uso sequencial de ferramentas individuais.



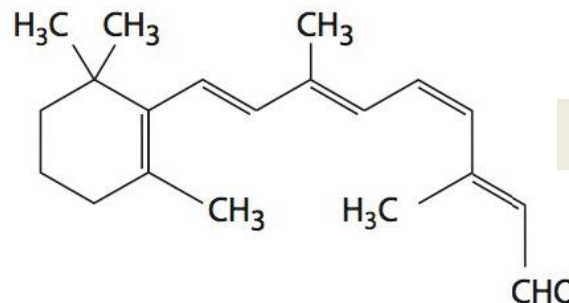
Máquina proteica: complexos proteicos frequentemente contêm como subunidades uma ou mais moléculas de proteínas que podem mover-se de uma maneira ordenada, impulsionadas por mudanças conformacionais energeticamente favorecidas que ocorrem em uma molécula de nucleotídeo ligada à proteína.

→ **Hidrólise de trifosfatos de nucleotídeos (ATP).**

Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula.*

As proteínas podem utilizar moléculas não proteicas para auxiliar o seu desempenho

- As proteínas freqüentemente utilizam moléculas não proteicas para auxiliar o desempenho de suas funções que seriam difíceis ou impossíveis de serem executadas só com os aminoácidos. Ex:
- **Rodopsina** = proteína receptora de sinais, sensível à luz e produzida pelos bastonetes na retina.
- Detecta luz por meio de uma molécula pequena, **o retinal** que fica embebida na proteína.
- O retinal muda de forma quando absorve um fóton de luz e essa mudança é amplificada pela proteína que desencadeia uma cascata de reações enzimáticas, eventualmente culminando com um sinal elétrico enviado para o cérebro.

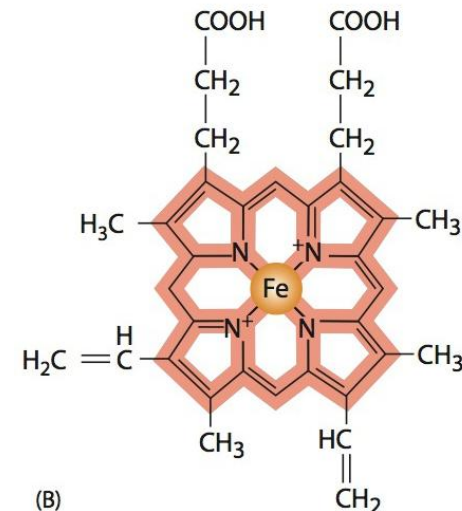
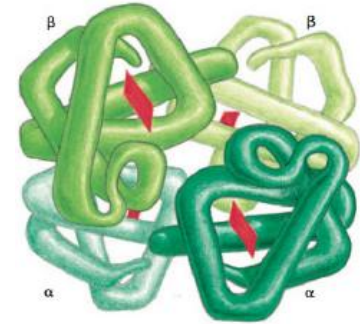


Estrutura do retinal

Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

As proteínas podem utilizar moléculas não proteicas para auxiliar o seu desempenho para auxiliar o seu desempenho

- ▶ Outro exemplo de proteína que contém uma porção não proteica é a hemoglobina.
- ▶ A molécula de hemoglobina carrega quatro grupos heme, que são moléculas em forma de um anel, cada qual carreando um átomo de ferro no centro.
- ▶ O heme dá à hemoglobina (e ao sangue) a sua cor vermelha.
- ▶ Ao ligar-se reversivelmente ao oxigênio gasoso pelo átomo de ferro, o heme possibilita à hemoglobina capturar oxigênio nos pulmões e liberá-los nos tecidos.



Fonte: Alberts et al., 2010. *Biologia celular da célula*.

Estudo dirigido

1. Defina “sítio de ligação” e “ligante” de uma proteína.
2. Como os aminoácidos da proteína estão organizados no sítio de ligação?
3. Como ocorre a associação da proteína com o seu ligante? Explique a importância do encaixe perfeito entre ligante-proteína e as forças de ligação envolvidas no processo.
4. Defina proteína alostérica.
5. Em relação aos mecanismos de controle da ação enzimática, defina retroalimentação.
6. Em relação aos mecanismos de controle da ação enzimática, defina fosforilação de proteínas.
7. Qual o papel da proteína cinase e proteína fosfatase no mecanismo de fosforilação de proteínas?
8. Em relação aos mecanismos de controle da ação enzimática, defina proteínas ligadoras de GTP ou proteína G.
9. Explique como as proteínas motrizes auxiliam o movimento celular a partir de mudanças conformacionais irreversíveis.
10. Explique como a maquinaria protéica trabalha na célula permitindo a realização de eventos centrais como a replicação de DNA.
11. Como a rodopsina utiliza uma molécula não protéica (retinal) para aumentar seu desempenho?
12. Como a hemoglobina utiliza uma molécula não protéica (grupo heme) para aumentar seu desempenho ?



